

A Small-Molecule Protein–Protein Interaction Inhibitor of PARP1 That Targets Its BRCT Domain

演讲：方志军

核心方法：化学交联技术(chemical cross linking)

药学121 方志军 (10121395)

文献信息

- 刊名: Angewandte Chemie (International Edition in English)
- ISSN号: 1433-7851
- 影响因子:
2013年度:11.336 2012年度: 13.737 2011年度: 13.455 2010年度: 12.73
- 分区:

大类学科	小类学科	Top期刊
化学 1区	CHEMISTRY, MULTIDISCIPLINARY 化学综合 2区	Top期刊

- 文献标题: **A Small-Molecule Protein–Protein Interaction Inhibitor of PARP1 That Targets Its BRCT Domain**
- 作者: Na Z;Peng B;Ng S;Pan S;Lee J;Shen H;Yao SQ.
- 出版日期: 2015

PART 1

化学交联技术的简单了解

技术背景

蛋白质作为一种生物高分子在生命活动中起着重要的作用。尤其是在人类基因组测序完成以后，人们认识到，对基因的了解并不能完全诠释全部的生命现象，毕竟蛋白质是生命现象的直接体现，是生命活动的执行者。生命表现出多因素、系统性、动态性的特征，蛋白质的相互作用及功能、构象变化参与和影响生命的全过程，是当前生命科学研究的一个热点。

常用的研究蛋白质相互作用的方法有：串联亲和纯化(tandem affinity purification)、免疫共沉淀(co-immunoprecipitation)、酵母双杂交(yeast two hybrid)、噬菌体展示(phage display)和化学交联(chemical cross linking)等

化学交联技术的应用最为久远，而随着生物质谱的出现，其应用面大为扩展，与其他方法联合使用，结果互相验证，是研究蛋白质相互作用的有力工具。

技术概念

化学交联反应：指在光、热、高能辐射、机械力、超声波和**交联剂**等作用下，**大分子链**间通过**化学键**联结起来，形成网状或体形结构高分子的过程。

化学交联剂：指能够和蛋白质反应的带有双功能团的化学试剂。通过**功能团**和**氨基酸残基**反应，偶联两个蛋白质或者更多的蛋白质形成网状交联。功能团决定了交联剂的反应特异性。

一种良好的化学交联剂-甲醛

甲醛作为活泼的小分子醛基试剂，常用于病理标本的保存和组织化学分析中，它可以快速地渗透细胞膜，在细胞内产生广泛地蛋白质交联。

可能的反应机理：甲醛和精氨酸、半胱氨酸、组氨酸和赖氨酸的氨基反应形成席夫碱的活泼中间体，再进一步与其他氨基酸残基反应，从而形成复杂的、网络状的交联产物

技术过程

样品的交联反应



交联产物纯化



质谱分析



数据处理

a、根据研究的目的，选择合适的化学交联剂，在生物样品中进行化学交联反应，产生目的交联产物

b、由于蛋白质分子的复杂性、生物样品中蛋白质成分的多样性和化学交联剂特异性的相对性，以及反应时微环境的pH、离子强度等因素的影响，反应的复杂度大为提高，目的交联产物仅是其中非常有限的一部分。用蛋白酶消化目的交联产物，使之成为质谱所能检测的多肽，此时，该多肽混合物中含有发生蛋白质相互作用的分子间的交联产物、同一蛋白质内的交联产物及未修饰的多肽片段，使样品的复杂度进一步提高。

c、利用LC—MS / MS在线分离、分析和专业软件解析，就可以最终确定检测样品中存在的蛋白质相互作用。

技术优缺点

优点：

- 1、结合生物质谱的高解析能力，快速、高通量地获取蛋白质高级结构信息，逐渐成为研究蛋白质相互作用的一种很有前途的方法。
- 2、能够“捕捉”到某个状态下的微弱的、瞬时相互作用。

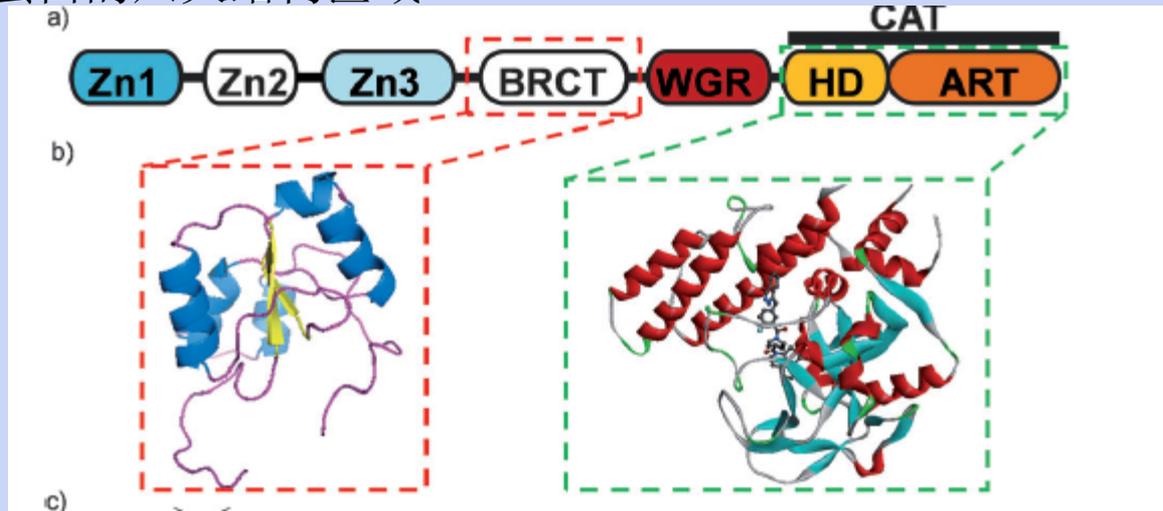
缺点： 交联技术更多的是一种实验性的过程，利用质谱解析其结果还有很大的局限，这就需要结合其他方法共同研究蛋白质的相互作用。

PART 2

结合文献理解化学交联技术

Phase I: 潜在靶标BRCT区的生物学性质

PARP1蛋白的六大结构区域



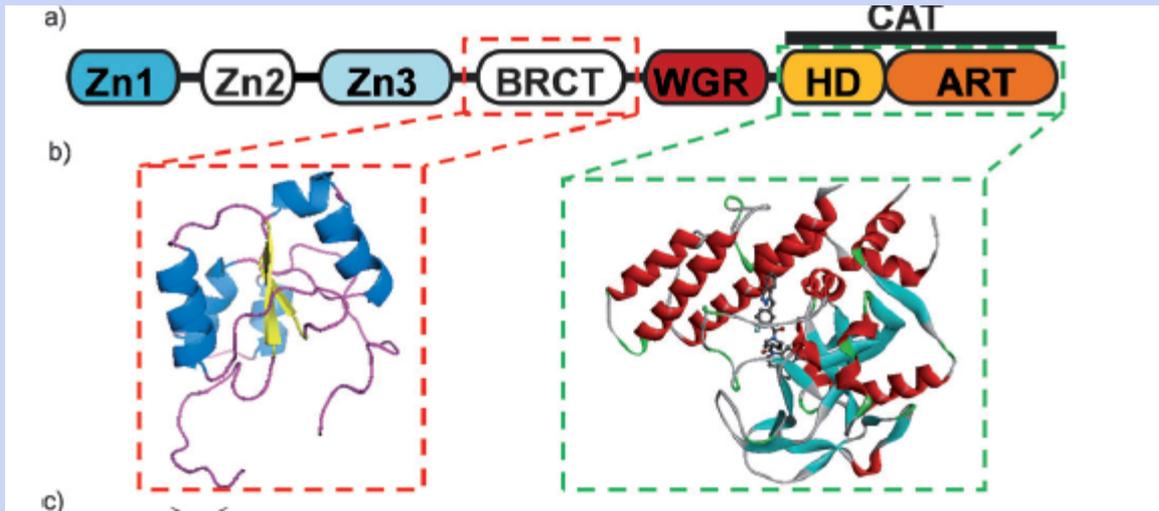
PARP1: 人类PARP的蛋白家族成员之一，分子量是113 kDa，存在于细胞核中的一种酶，主要参与DNA单链断裂和双链断裂的修复。此外还有调控转录、染色体稳定、细胞分裂、分化和凋亡等多种生物学功能。通过干扰PARP1的蛋白质-蛋白质相互作用（PPI作用），来抑制酶的活性，因此PARP1成为了当今癌症治疗中炙手可热的靶标之一，相应的药物称为PARP1蛋白小分子抑制剂，例如Olaparib，DPQ

PARP1蛋白有6个结构区域，**现在使用的抗癌药物**，基本都是以PARP1中的催化区为作用靶区的小分子抑制剂，存在一个潜在的问题是**其缺乏选择性**。

是否存在既能有效干扰PARP1的PPI作用，又能高效率选择性其活性的小分子抑制剂？

Phase I: 潜在靶标BRCT区的生物学性质

PARP1蛋白的六大结构区域



BRCT区：众所周知的磷酸化读者域,经常发现于参与DNA修复和细胞周期的蛋白质中,这个区域共有90~100个氨基酸,中央部分有4股 β -折叠链,侧面有3条 α 螺旋(如图)。它和其他的一些蛋白质,比如XRCC1,Hsp70, and OGG1一形成大分子复合物,共同介导PARP1的PPI作用,在损伤DNA的修复以及细胞信号传导方面至关重要。

之前有研究表明,通过将PPI相关作用位点作为靶标,发展磷酸化阅读域(即BRCT区)的小分子抑制剂是有可能的,比如14-3-3和BRCA1。这种抑制剂不断可以促使新药物的发现,而且相比活性位点抑制剂,具有更好的选择性。

因此：**BRCT区被合理地确立为潜在的药物作用靶标**

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/836122144222010145>